

# 唾液腺の多形性腺腫と腺様嚢胞癌との比較研究 : 細胞増殖動態とp21rasおよびp53の発現について

著者	往西 良之
発行年	1996-03-22
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10422/2306">http://hdl.handle.net/10422/2306</a>

氏名・（本籍）	往 西 良 之（奈良県）
学 位 の 種 類	博士（医学）
学 位 記 番 号	博士（論）第179号
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位授与年月日	平成8年3月22日
学位論文題目	唾液腺の多形性腺腫と腺様嚢胞癌との比較研究 —細胞増殖動態とp21rasおよびp53の発現について—

審査委員	主査 教授	挟 間 章 忠
	副査 教授	吉 武 一 貞
	副査 教授	服 部 隆 則

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 〔目 的〕

唾液腺腫瘍は多彩で複雑な組織像を有し、特に本腫瘍の中で多形性腺腫は最も頻度の高い代表的な良性腫瘍であり、腺様嚢胞癌は代表的な悪性腫瘍である。両腫瘍は良性と悪性に分類されてはいるが、組織学的には非常に類似した組織像を呈するものもあり、鑑別が困難な場合がある。近年の免疫組織学的研究により両腫瘍の組織発性と機能分化に関して多くの類似性が存在することが分ってきた。しかし両腫瘍の生物学的態度の相違に関する報告は未だ十分にはされていない。生物学的態度に最も関係するのは細胞増殖能であるが、多形性腺腫と腺様嚢胞癌についての研究は少ない。また近年の分子生物学の進歩により腫瘍の生物学的特性には癌遺伝子や癌抑制遺伝子の発現異常が関与していることが明かにされてきた。唾液腺の腫瘍では組織型が多彩であり、その異型性の程度が種々の遺伝子変化と相関している可能性があるが、癌遺伝子の発現という観点からの検討はあまり行われていない。

今回、本研究では多形性腺腫と腺様嚢胞癌において、DNA ploidy pattern の測定と PCNA および Ki-67免疫組織化学染色により細胞増殖動態の差異を検討した。その上で両腫瘍の p21 ras 遺伝子産物と p53遺伝子産物の発現を免疫組織化学的に検討し、両腫瘍の細胞増殖動態にこの2つの遺伝子産物の発現との関わりを比較した。

### 〔材料・方法〕

外科的に摘出された大唾液腺、小唾液腺由来の多形性腺腫42例および腺様嚢胞癌24例を用いて、それらに隣接した正常唾液腺組織（3例）を対象とした。組織型別分類として多形性腺腫は myxoid pattern（粘液腫様型）、ductal pattern（腺管型）、cellular pattern（細胞充実型）に分類し、腺様嚢胞癌は cribriform pattern（篩状型）、tubular pattern（管状型）、solid pattern（充実型）の3型に分類した。得られた組織は10%ホルマリン固定後、パラフィン包埋した。

#### 1、顕微蛍光測光法による DNA ploidy pattern の測定

パラフィンブロックから4 $\mu$ mの切片とそれに隣接する100 $\mu$ m切片を作製し、4 $\mu$ mHE 標本を観察しながら、厚切切片から目的部位を採取し、単離細胞塗抹標本を作製し、DAPIにより細胞核DNA染色を行った。落射式顕微蛍光測光装置 Nikon P1 を使用し、細胞の形態を確認しながら腫瘍細胞300から500個の核DNA量を測定した。対象として各標本内に混在するリンパ球を20個から40個測定してその平均値を2倍体、すなわち2C DNA量の基準とし、核DNA量分布をヒストグラム表示した。

#### 2、免疫組織化学的染色法

一次抗体として、抗PCNA抗体（PC10、DAKO社）を300倍、抗 Ki-67 抗体（MIB-1 immunotech 社は）100倍、抗p21 ras抗体（NCC-RAS-001、DAKO社）を200倍、抗p53抗体（DO7、Novocastra社）を200倍にPBSで希釈し、室温で一昼夜反応させた後、ABC変法にて免

疫組織化学染色を行った。

PCNA陽性細胞比率 (PCNA PI) と Ki-67陽性細胞比率 (Ki-67 PI) の算出は腫瘍細胞約 1000個中の PCNA および Ki-67抗体陽性細胞数を計数し、百分率表示して PCNA PI および Ki-67 PI とした。

#### 〔結 果〕

1. DNA ploidy pattern からみると多形性腺腫は全例 diploid pattern であり polyploid cell を認めず、腺様嚢胞癌は16.7%に aneuploid pattern を示し、全て polyploid cells を伴う diploid pattern であった。

2. PCNA PI および Ki-67 PI からみた両腫瘍の増殖能は、有意に腺様嚢胞癌 (16.3%、16.8%) が多形性腺腫 (7.8%、7.7%) より高かった。また、多形性腺腫の各組織型別では myxoid (7.5%、8.1%)、cellular (8.4%、9.0%)、ductal (7.6%、6.9%) と差はなかったが、腺様嚢胞癌では solid (19.2%、20.3%) が cribriform (15.3%、14.3%)、tubular (14.3%、15.7%) の2型より有意に高かった。

3. p21 ras の発現では多形性腺腫と腺様嚢胞癌はそれぞれ54%と67%で、有意差は認めなかった。

4. p53の発現は多形性腺腫が21%で、腺様嚢胞癌は83%であり、有意に腺様嚢胞癌が高かった。

#### 〔考 察〕

顕微蛍光測光法やFCM法により癌細胞の増殖動態には正常細胞と異なり、増殖期細胞の増加、polyploid cell の存在、aneuploidy の出現というような特徴があることが明かにされている。各々を比較したところ腺様嚢胞癌の方が全例に polyploid cell が認められ、また aneuploidy がみられ、有意に増殖能が高かった。このことは両腫瘍の生物学的態度の相違を細胞増殖動態の立場から説明し得るものと考えられた。

次にp21 ras およびp53遺伝子産物の発現状況から両腫瘍をみるとp21 ras の発現には差を認めなかったが、p53では有意に腺様嚢胞癌の方に発現がみられた。発癌過程のモデルとして多段階発癌過程が提唱されているが、ras 遺伝子は発癌の比較的早期 (initiation, promotion) に、p53遺伝子は比較的後期に変化が起きる (conversion) とされている。これらのことを併せて考えると腺様嚢胞癌は悪性腫瘍としての性格を有しており、良性とされる多形性腺腫にもp53の発現から前悪性としての性質を持っているものが多く含まれていると考えられた。

#### 〔結 論〕

多形性腺腫と腺様嚢胞癌との生物学的態度の違いの一因として、細胞増殖能の差異とp53の発現の関連が示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

多形性腺腫と腺様嚢胞癌は唾液腺の代表的な腫瘍である。前者は良性、後者は悪性とされているが、いずれも多彩な組織像を呈し、類似した組織像がみられることも少なくない。両腫瘍の鑑別診断には病理形態学以外の客観的指標が必要であるが、本研究は、外科的に切除された多形性腺腫42例と腺様嚢胞癌24例を用いて、両者の生物学的特性の差異を細胞増殖動態と遺伝子発現から検討したものである。多形性腺腫は myxoid、cellular と ductal の3型に、また、腺様嚢胞癌は cribriform、tubular と solid の3型に亜分類し、それぞれ典型的な部位について、DNA ploidy pattern と proliferating cell nuclear antigen (PCNA) ならびに Ki-67 に対する免疫組織化学により検討した。その結果、DNA ploidy pattern については、多形性腺腫の全例が diploid の細胞のみからなっているのに対し、腺様嚢胞癌では aneuploid (16.7%) か、diploid でも必ず polyploid 細胞を伴うもの (83.3%) であった。PCNA染色率では、腺様嚢胞癌 (16.3%) が多形性腺腫 (7.8%) より有意に高かった。多形性腺腫では組織亜型別に、染

色率に差は無かったが、腺様嚢胞癌では solid 型 (20%) が他の2型 (15%、14%) より高かった。また、Ki-67染色率も同様の結果であった。さらに、遺伝子変化について、Ki-ras 蛋白 p21とp53蛋白の発現を免疫組織化学的に検討した。その結果、p21の発現において、多形性腺腫 (54%) と腺様嚢胞癌 (67%) に有意差は無かったが、p53の発現では、多形性腺腫 (21%) よりも腺様嚢胞癌 (83%) のほうが有意に高かった。

以上のことより、多形性腺腫と腺様嚢胞癌とを比較すると DNA ploidy pattern と増殖能が決定的に違うこと、p53の発現においても両腫瘍に差があることが明かにされた。唾液腺腫瘍の良、悪性の診断にこれらの研究法が有用であることが示され、よって、博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。